

University of Groningen

Design, (radio)synthesis and applications of radiolabelled matrix metalloproteinase inhibitors for PET

Matusiak, Nathalie

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

2015

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Matusiak, N. (2015). *Design, (radio)synthesis and applications of radiolabelled matrix metalloproteinase inhibitors for PET*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. University of Groningen.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

Nederlandse samenvatting

'Matrix metalloproteinases' (MMPs) en 'a disintegrin and metalloproteinases' (ADAMs) zijn twee families van zink endopeptidases die worden uitgescheiden in de extracellulaire matrix (ECM) of zijn gehecht aan de extracellulaire kant van de cel membraan [1-3]. De verscheidenheid aan functies toegeschreven aan MMPs en ADAMs in de regulering van de weefsel micro-omgeving en in de hermodellering van de ECM zijn van cruciaal belang voor verschillende soorten kanker of ontsteking [4, 5]. Derhalve kan het MMP/ADAM activiteitsprofiel worden beschouwd als een waardevolle indicatie voor de staging van een tumor met betrekking tot de kans op uitzaaiing of voor de identificatie van een ontsteking.

De primaire focus van dit proefschrift is het ontwerp, de (radio)synthese en evaluatie van radioactief gemerkte matrix metalloproteinase remmers (MMPis), voor de visualisatie en kwantificatie van de niveaus van MMPs en ADAMs *in vivo* met behulp van positron emissie tomografie (PET).

Hoofdstuk 1 geeft een algemene inleiding en een overzicht van het proefschrift.

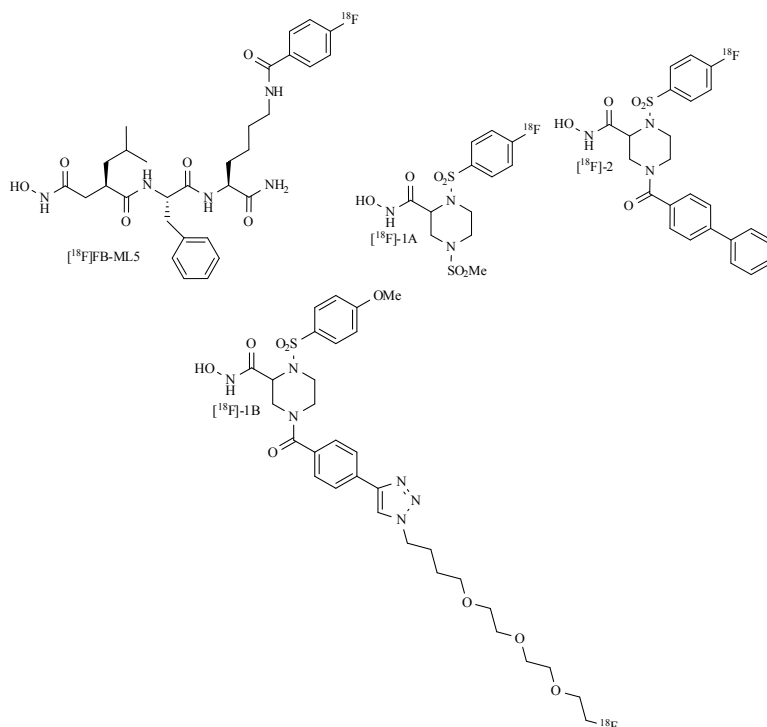
Hoofdstuk 2 geeft een overzicht van radioactief gemerkte MMPis en MMP peptide substraten voor PET en 'single photon emissie computed tomography' (SPECT). Uit dit overzicht wordt duidelijk dat, ondanks de beschikbaarheid van enkele hydroxamaat gebaseerde tracers gericht op specifieke identificatie van de proteolytische activiteit van MMPs en ADAMs, de meeste studies in een vroege fase zijn en hooguit diermodellen van diverse aandoeningen betreffen. Dit benadrukt de noodzaak voor het verder ontwikkelen en evalueren van nieuwe tracers voor MMPs/ADAMs.

Hoofdstuk 3 beschrijft de bereiding en evaluatie van de radioactief gemerkte MMP/ADAM inhibitor [$^{18/19}\text{F}$]FB-ML5 [Figuur 1]. [$^{18/19}\text{F}$]FB-ML5 werd gemaakt door directe acylering van de hydroxamaat-remmer ML5 met *N*-succinimidyl-4- $^{18/19}\text{F}$ fluorbenzooat ([$^{18/19}\text{F}$]SFB) [Tabel 1]. ML5 en FB-ML5 toonden hoge affiniteit voor MMP-2, -9, -12 en ADAM-17 [Tabel 2]. Het inbrengen van de fluorbenzoyl groep resulteerde niet in een wezenlijke verandering van de affiniteit voor MMP-2, -9 en ADAM-17. Echter, de affiniteit van FB-ML5 voor MMP-12 was bijna 100-voudig verminderd ten opzichte van die voor ML5. [^{18}F]FB-ML5 toonde een nogal lage binding in cellijnen met overexpressie van ADAM-17. Binding van [^{18}F]FB-ML5 kon worden gereduceerd met 36,6% en 27,5% in respectievelijk MCF-7 cellen en 16HBE cellen, na co-incubatie met 10 μM oplossing van ML5. [^{18}F]FB-ML5 werd geëvalueerd in een HT1080 tumor-dragend muismodel. Accumulatie van de tracer in de tumor was aanzienlijk verminderd na blokkeren met koud ML5 (2,5 mg/kg). De gemid-

delde PET-SUV_{mean} was $0,13 \pm 0,09$ in onbehandelde controledieren en $0,04 \pm 0,03$ na blokkeren [Tabel 3], op 90 min na toediening van de tracer door middel van injectie.

Hoofdstuk 4 beschrijft de evaluatie van deze gelabelde peptidomimetische MMP/ADAM-remmer in een muismodel van longontsteking gezien de bemoedigende resultaten van [^{18}F]FB-ML5 in het HT1080 tumor-dragend muismodel. Muizen werden gedurende vier dagen blootgesteld aan sigarettenrook (CS) of normale lucht en een dynamische microPET scan werd uitgevoerd op de vijfde dag. De opname in de longen in beide groepen was relatief laag. PET-SUV_{mean} waarden op 90 min na toediening van de tracer waren $0,19 \pm 0,06$ in de longen van aan rook blootgestelde muizen in vergelijking met $0,11 \pm 0,03$ bij aan lucht bloot gestelde muizen [Tabel 3]. MMP-9 niveaus in bronchoalveolaire lavage vloeistof werden verhoogd van een niet-detecteerbaar niveau tot $4615 \pm 1963 \text{ pg.mL}^{-1}$ als gevolg van CS blootstelling. CS blootstelling leidde tot een verhoging van het aantal neutrofielen en (in mindere mate) eosinofielen in deze vloeistof, maar niet van monocytten. Dit komt overeen met de verwachting aangezien het ontstekingsproces bij chronische obstructieve longziekte (COPD) voornamelijk te wijten is aan de aanwezigheid van neutrofielen. Kort samengevat: de verhoogde MMP expressie in een COPD muismodel resulteerde in een verhoogde opname van [^{18}F]FB-ML5. Hoewel de tracer lijkt te werken is de absolute opname in doelweefsels erg laag, waardoor de gevoeligheid van een PET scan voor het detecteren van veranderingen ten gevolge van aandoeningen beperkt is. Meer onderzoek om betere tracers te ontwikkelen blijft nodig.

Non-peptidomimetische remmers kunnen een grotere specificiteit vertonen in vergelijking met peptidomimetische verbindingen [6]. In hoofdstuk 5 wordt het ontwerp, de (radio)synthese en evaluatie van piperazine-gebaseerde MMP/ADAM remmers [^{18}F]-**1A** en [^{18}F]-**2** [Fig 1] met verschillende lipofiliciteiten beschreven. De referentie verbindingen **1A** en **2** werden bereid en ook de respectievelijke [^{18}F] gemerkte analoga via aromatische nucleofiele substitutie reacties van de nitro precursors met cyclotron geproduceerd [^{18}F]fluoride. **1A** en **2** toonden goede *in vitro* affiniteiten voor MMP-9, -12 en ADAM-17 [Tabel 2]. De synthese van [^{18}F]-**1A** en [^{18}F]-**2** resulteerde in lage en variabele radiochemische opbrengsten (RCY) [Tabel 1]. [^{18}F]-**1A** en [^{18}F]-**2** toonden lage target-tot-non-target-verhoudingen in een HT1080 tumor-dragende muismodel [Tabel 3] en kunnen daarom niet worden beschouwd als geschikte PET tracers.



Figuur 1: Structuur van [^{18}F]FB-ML5, [^{18}F]-1A, [^{18}F]-2 en [^{18}F]-1B

Hoofdstuk 6, tot slot, beschrijft de ontwikkeling en preklinische evaluatie van een andere piperazine gebaseerde MMP/ADAM remmer [^{18}F]-1B [Figuur 1]. De referentie verbinding **1B** werd met succes bereid door middel van klik chemie en toonde nanomolaire affiniteiten voor MMP-2, -9 en ADAM-17 [Tabel 2]. [^{18}F]-1B werd gesynthetiseerd met goede radiochemische opbrengst [Tabel 1]. De opname van [^{18}F]-1B bleek aan de MMP/ADAM concentratie in het HT1080 xenograft muis-model gerelateerd te zijn [Tabel 3]. [^{18}F]-1B is daarom een veelbelovende nieuwe tracer die verder kan worden geevalueerd als specifieke MMP/ADAM tracer in tumoren met PET.

	RCY (gecorrigeerd voor verval)	Specifieke activiteit (aan het eind van synthese)	RCP
[¹⁸F]FB-ML5	13-16% gebaseerd op [¹⁸ F]SFB	41-66 GBq/μmol	> 95%
[¹⁸F]-1A	1 to 3% gebaseerd op [¹⁸ F]F ⁻	34-78 GBq/μmol	> 95%
[¹⁸F]-2	1 to 3% gebaseerd op [¹⁸ F]F ⁻	42-86 GBq/μmol	> 95%
[¹⁸F]-1B	25-27% gebaseerd op [¹⁸ F]F ⁻	45-59 GBq/μmol	> 95%

Tabel 1: Radio-chemische opbrengst (RCY, gecorrigeerd voor verval), specifieke activiteit (aan het eind van synthese) en radiochemische zuiverheid (RCP) [¹⁸F]FB-ML5, [¹⁸F]-1A, [¹⁸F]-2 en [¹⁸F]-1B

IC ₅₀	MMP-2	MMP-9	MMP-12	ADAM-17
ML5	7.4 ± 2.0 nM	19.5 ± 2.8 nM	2.0 ± 0.2 nM	5.7 ± 2.2 nM
FB-ML5	12.5 ± 3.1 nM	31.5 ± 13.7 nM	138.0 ± 10.9 nM	24.7 ± 2.8 nM
1A	nb	14.5 ± 2.57 nM	19.3 ± 4.96 nM	620 ± 89.1 nM
2	nb	9.19 ± 2.07 nM	1.12 ± 1.08 nM	10.6 ± 0.91 nM
1B	4.67 ± 0.85 nM	3.67 ± 0.49 nM	nb	43.4 ± 7.74 nM

Tabel 2: IC₅₀ waarden voor ML5, FB-ML5, 1A, 2 en 1B

nb: niet bepaald

		Controle	Na blokkade
HT1080 tumor	PET-SUV _{mean} ([¹⁸ F]FB-ML5)	0.13 ± 0.09	0.04 ± 0.03
COPD model	PET-SUV _{mean} ([¹⁸ F]FB-ML5)	0.11 ± 0.03	0.19 ± 0.06
HT1080 tumor	SUV _{mean} ([¹⁸ F]-1A)	0.14 ± 0.04	0.11 ± 0.04
HT1080 tumor	SUV _{mean} ([¹⁸ F]-2)	0.15 ± 0.03	0.12 ± 0.02
HT1080 tumor	PET-SUV _{mean} ([¹⁸ F]-1B)	0.37 ± 0.07	0.25 ± 0.10

Table 3: PET-SUV_{mean}/SUV_{mean} voor [¹⁸F]FB-ML5, [¹⁸F]-1A, [¹⁸F]-2 en [¹⁸F]-1B

Referenties

1. Nagase H, Woessner JF. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem.* 1999;274(31):21491–4.
2. Massova I, Kotra LP, Fridman R, Mobashery S. Matrix metalloproteinases: structures, evolution, and diversification. *FASEB J.* 1998;12(12):2075-95.
3. Seals DF, Courtneidge SA. The ADAMs family of metalloproteases: multidomain proteins with multiple functions. *Genes Dev.* 2003;17(1):7–30.
4. Deryugina EI, Quigley JP. Matrix metalloproteinases and tumor metastasis. *Cancer Metastasis Rev.* 2006; 25(1):9-34.
5. Parks WC, Wilson CL, López-Boado YS. Matrix metalloproteinases as modulators of inflammation and innate immunity. *Nat Rev Immunol.* 2004;4(8):617-29.
6. Konstantinopoulos PA, Karamouzis MV, Papatsoris AG, Papavassiliou AG. Matrix metalloproteinase inhibitors as anticancer agents. *Int J Biochem Cell Biol.* 2008;40(6-7):1156-68.